Ueber den Einfluss

des

Saccharins auf die Zuckerreactionen,

besonders in Hinsicht auf die praktische Bedeutung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Heinrich Körtke,

cand med. aus Hamburg.

München 1899.

Kgl. Hofbuchdruckerei Kastner & Lossen.

Ueber den Einfluss

des

Saccharins auf die Zuckerreactionen,

besonders in Hinsicht auf die praktische Bedeutung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Heinrich Körtke,

cand med. aus Hamburg.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

München 1899.

Kgl. Hofbuchdruckerei Kastner & Lossen.

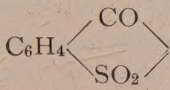
Referent: **Herr Prof. Dr. Tappeiner.**

Seinen lieben Eltern

gewidmet.

Einleitung.

Zu den Körpern, welche in den menschlichen Organismus eingeführt, denselben durch den Harn, ohne Veränderung erlitten zu haben, wieder verlassen, gehört das Saccharin. Besonders zwei Formen desselben sind im Handel verbreitet. Zunächst das Orthosulfaminbenzoësäureanhydrid



Dieses im Wasser schwer lösliche Präparat ist nach der Befreiung von der nicht süssschmeckenden Paraverbindung 550 mal süsser als Rohrzucker. Dann und zwar häufiger findet das Natronsalz der Orthosulfaminbenzoësäure wegen seiner leichten Löslichkeit zum Versüssen von Speisen und Getränken Verwendung. Das Saccharin hat nun in jüngster Zeit nicht nur als Versüssungsmittel der Nahrung bei Diabetes und anderen Krankheitszuständen, wo man aus therapeutischen Gründen den Genuss des Zuckers verbietet, Bedeutung erlangt, sondern wird auch unter Zuhilfenahme grosser Reklame von Saccharinfabriken mit Hinweis auf die relative Billigkeit als Ersatz für Zucker überhaupt angepriesen, und es scheint, als wenn dieser Stoff in seiner Verwendung an Boden gewinnt. Da also der Arzt bei Krankenuntersuchungen leicht in die Lage kommen kann, an saccharinhaltigem Harn die Zuckerproben anzustellen, so ist es von Interesse, zu wissen, ob die Anwesenheit des Saccharins dieselben modifizieren kann.

Nun findet sich in der dritten Auflage des Lehrbuchs von Neubauer und Vogel: Anleitung zur qualitativen und quantitativen Analyse des Harns, bearbeitet von Huppert auf Seite 115 bei der Trommerschen Probe die Notiz: Saccharin erschwert nach Torsellini die Reaktion, ferner Seite 119 bei der Nylanderschen Probe: Nach Torsellini verhindert das Saccharin die Nylandersche Probe. Beide Male wird verwiesen auf D. Torsellini, Ann. di chim. e di farmacol. (4) 10. 137 — Jahresbericht f. Tierchemie 1889. 226. Da das italienische Original auf der kgl. Staatsbibliothek nicht erhältlich war, führe ich das betreffende Referat aus dem Jahresbericht für Tierchemie an. Es heisst da folgendermassen: D. Torsellini: Einfluss des Saccharins auf die Reaktion der Glycose (Influenza della saccarina sulle reazioni del Glucoso. Ann. di chim. e. di farmacol. Ser. 4. 10. 137.) Es wurde untersucht, in wie weit die Gegenwart von Saccharin den Nachweis der Glycose durch die verschiedenen Reagentien verhindert; Saccharin reduziert nicht die Fehling'sche Lösung; wird es aber einer Glycoselösung in verschiedener Menge hinzugefügt, so kann es die reduzierende Eigenschaft der Glycose vermindern oder vollständig hemmen. Dieses Resultat wurde erzielt bei Anwendung der Fehling'schen Lösung, bei Ausführung der Trommer'schen Probe, beim 24 stündigen Stehenlassen der Mischung aus Zucker, Saccharin, schwefelsaurem Kupferoxyd und Kali bei gewöhnlicher Temperatur (nach dem Verf. Reaktion nach Cappezzuoli) bei Anwendung des Worm-Müller'schen Reagenz und bei jener der Böttger'schen (von Almèn und von Nylander modifizierten) Reagenz. Bei Anwendung der Mulder'schen Probe zeigte sich, dass die Gegenwart von Saccharin die Zeit verlängert, nach welcher die Entfärbung der Indigolösung eintritt; sie verkürzt dagegen die Zeit des Wieder-

erscheinens der Färbung. Mit diabetischem Harn, dem Saccharin zugesetzt wurde, erhielt man mit den genannten Reagentien dieselben Resultate.

Die Zuckergärung wird ebenfalls durch Saccharin wesentlich beeinträchtigt. Die Gegenwart von Saccharin in einer Zuckerlösung beeinträchtigt aber nicht deren Drehungsvermögen. Verf. gelangt daher zu dem Schlusse, dass, wenn man in dem Harn eines Saccharin gebrauchenden Diabetikers den Zucker quantitativ bestimmen will, man nicht die chemischen Reaktionen, wohl aber einzig und allein das Saccharimeter anwenden soll. v. Vintschgau.

Verhält es sich nun wirklich so? Infolge der schon oben erwähnten zunehmenden Verbreitung des Saccharingebrauches dürfte die Beantwortung dieser Frage praktische Bedeutung haben, und ich habe deshalb auf Veranlassung des Herrn Professors Tappeiner in seinem Laboratorium eine Reihe von Untersuchungen über dieses Thema angestellt, deren Anordnungen und Resultate im folgenden ausgeführt werden sollen.

I.

Einfluss des Saccharins auf die reducierende Wirkung des Traubenzuckers, untersucht mittelst der quantitativen Dextrosebestimmung nach Allihn.

Zunächst füge ich einiges über die Methode an: Bekanntlich gründet sich die Fehling'sche Probe darauf, dass alkalische Kupferlösung durch Zucker in der Weise zersetzt wird, dass Kupferoxydul ausgeschieden wird. Jedoch geht dieses, wie Soxhlet (Journal für praktische Chemie, Bd. 21, p. 227) nachgewiesen hat, nicht nach festem stöchiometrischem Verhältnis vor sich, sondern es zeigte sich das Reduktionsvermögen zwischen Kupfer und Zucker von der Konzentration der auf einander wirkenden Lösungen abhängig. Märker zeigte, dass die durch den relativen Kupferüberschuss bedingte Aenderung des Reduktionsvermögens eine ganz gesetzmässige ist und arbeitete deshalb ein gewichtsanalystisches Verfahren aus in der Weise, dass er verschiedene Mengen der alkalischen Kupferlösung unter Einhaltung gewisser Versuchsbedingungen einwirken liess. So wurden bestimmte Reduktionsfaktoren erhalten, mittelst deren man Tabellen herstellte, aus denen man die der gewogenen Kupfermenge entsprechende Menge Zucker direkt ablesen kann. Solche Tabelle hat Allihn für Dextrose ausgearbeitet (F. Allihn, Journal f. prakt. Chemie 1880).

Diese gewichtsanalystische Bestimmung wird, kurz angedeutet, folgendermassen ausgeführt: Man erhitzt die vorgeschriebene Menge verdünnter Fehling'scher

Lösung zum Sieden, lässt aus der Pipette die bestimmte Menge Zuckerlösung zufliessen, unterhält die vorgeschriebene Zeit im Sieden und filtriert durch ein zu diesem Zwecke besonders gereinigtes Asbestfiltrierröhrchen. Der gereinigte Niederschlag wird getrocknet, über der Flamme oxydiert und dann am Wasserstoffentwickler durch den Wasserstoff unter Erwärmen zu metallischem Kupfer reduziert. Die Gewichtszunahme des Röhrchens ergiebt die Menge des Kupfers; die des Zuckers zeigt die Tabelle an. Die Fehling'sche Lösung muss für diese Bestimmung nach besonderer Vorschrift bereitet sein, nämlich:

a. Kupfervitriollösung:

Chemisch reines Kupfervitriol des Handels wird einmal aus verdünnter Salpetersäure, 3 mal aus Wasser auskrystallisiert, zwischen Filtrierpapier trocken gepresst und 12 Stunden an der Luft liegen gelassen. Von diesem Kupfervitriol werden 69,278 g in Wasser gelöst und zu 1000 cc aufgefüllt.

b. Seignettesalz-Natronlauge.

173 g Seignettesalz werden in 400 cc Wasser gelöst und mit 100 cc einer Natronlauge versetzt, die 51,6 g Natriumhydroxyd enthält.

Allihn hat eine besondere Vorschrift erlassen, aber, wie das Folgende zeigt, sind die Resultate mit der von Fehling vorgeschriebenen Lösung recht genaue.

Untersuchungen:

Zunächst wurden, wie es vorgeschrieben ist,

30 cc Kupferlösung
30 cc Seignettesalz-Natronlauge

und 60 cc Wasser zusammen zum Sieden erhitzt und 25 cc Zuckerlösung hinzugegeben. Es zeigte sich, dass das Röhrchen vorher

23,9504, nach dem Filtrieren
24,1886 g wog, also

0,2382 g an Gewicht gewonnen hatte. Nach der Tabelle entsprechen 0,2382 g Kupfer 0,1228 g Zucker oder 0,4912 % der untersuchten Lösung, die zu 0,5 % Dextrosegehalt hergestellt war. Zwei Kontrollversuche ergaben das eine Mal:

Gewicht des Röhrchens vorher 23,9481 g
nachher 24,1866 g
oder 0,2385 g

Kupfer, welches nach der Tabelle 0.1231 g Dextrose oder 0,4924 % Dextrosegehalt entspricht.

Das andere Mal erhielt ich:

Gewicht vorher 25.7088, — .
nachher 25.9589, also
0.2501 g Kupfer,

was 0,1294 g Dextrose oder 0,5176 % entspricht. Die Resultate entfernen sich also nur wenig von 0,5 % Dextrosegehalt.

Jetzt wurde mit gleichzeitiger Saccharinanwesenheit untersucht und zwar das erste Mal in folgender Anordnung:

30 cc Kupferlösung,
30 cc Seignettesalz-Natronlauge,
30 cc Wasser,
30 cc Saccharinlösung (2,5 g mit Hülfe von Alkali gelöst)

wurden zusammen zum Sieden erhitzt und dann wieder die 25 cc derselben Zuckerlösung hinzugegeben und gekocht. Das ausgeschiedene Kupferoxydul zeigte sich viel feiner verteilt und von mehr lehmartig gelber Farbe als beim Fehlen des Saccharins. Auch ging das Filtrieren bedeutend langsamer von statten. Es ergab nun das Gewicht des Röhrchens

vorher 23,9504 g,
nachher 24,1645 g, also
0,2137 g Kupfer oder

109,84 mg Dextrose oder 0,43936 % Zuckergehalt · anstatt 0,5 %.

Das zweite Mal wurde so vorgegangen:

30 cc Kupferlösung,
30 cc Seignettesalz-Natronlauge, welche 2,5 g Saccharin gelöst enthielten, und
60 cc Wasser wurden zum Sieden erhitzt und wieder

25 cc derselben Zuckerlösung hinzugegeben und dann wieder die vorgeschriebene Zeit im Sieden erhalten. Jetzt ergab sich:

Gewicht des Röhrchens vorher 25,7206
nachher 25,9298,
also 0,2092 g

Kupfer, entsprechend 107,4 mg Dextrose oder 0,4296 %.

Es zeigte sich also eine Verminderung der erhaltenen Kupfermenge in den 30 cc Kupferlösung von

0,2382 resp.
0,2385 resp.
0,2501 g auf

0,2137 resp. 0,2092 g.

Die Versuche beweisen nicht zwingend, dass weniger Kupfersulfat reduziert worden ist, weil bei längerer Dauer des Filtrierens, wie sie durch die feinere Verteilung des Niederschlags bedingt wurde, wieder ein Teil des Kupferoxyduls in Lösung geht. Es wurde deshalb zu der Titrirbestimmung mit Fehling'scher Lösung übergegangen.

II.

Versuche mit der quantitativen Zuckerbestimmung mittelst Titration mit Fehling'scher Lösung.

Für diese Bestimmung wurden die von Soxhlet für diesen Zweck vorgeschriebenen Lösungen gebraucht, nämlich:

a) Kupfervitriollösung, im Liter 103,92 gr enthaltend.

b) Seignettesalzlösung, die im Liter 280 gr des Salzes enthält. Um die Schimmelbildung zu verhindern, wurde etwas Phenol hinzugesetzt.

c) Natronlauge von 1,137 Dichte; im Liter 120 gr Natriumhydrat enthaltend.

Gleiche Volumina von den drei Lösungen vermischt, bilden die Fehling'sche Lösung für die Titrirbestimmung, und zwar zeigt 1 cc derselben 5 mg Traubenzucker an. Es kommt bei unserer Methode bekanntlich darauf an, den Grenzpunktfestzustellen, wo die Fehling'sche Lösung ihre blaue Farbe durch das Reduktionsvermögen des Zuckers eben völlig verliert. Wo die Erkennung der Färbung Schwierigkeit bot, wurde zur Klärung nach der Vorschrift von J. Munk (Virchow's Archiv 105. 63. 1886) Chlorcalciumlösung hinzugesetzt.

Da die Resultate der Titrirbestimmung nur richtig sind, wenn die untersuchte Zuckerlösung zwischen 0,5 und 1,0 % Zucker enthält, so wurde eine circa 0,75 % Dextroselösung verwendet.

Versuche.

Nach Soxhlet darf man zu bereits gekochten, noch blauen Proben nicht noch mehr Zuckerlösung hinzusetzen, weil sonst das Resultat dadurch falsch wird, dass sich Kupferoxydul wieder zu Oxyd oxydiert und dieses von neuem reduziert werden kann. Deshalb wurde jedesmal eine frische Menge der untersuchten Flüssigkeit verwendet.

Der Versuch wurde demnach in folgender Weise angeordnet: zu je 10 cc Fehling'scher Lösung wurde aus der Bürette das betreffende Volumen der Flüssigkeit hinzugesetzt, dann etwas Natronlauge und so viel Wasser hinzugegeben, dass das gesamte Volumen circa 50 cc ausmachte. Dann wurde bis zum Sieden erhitzt. Zunächst zeigte sich, dass 10 cc Fehling'scher Lösung beim Titriren mit 6 cc der Zuckerlösung noch blau war, während 7 cc völlige Entfärbung herbeiführten. Jetzt wurden die Grenzen enger gezogen und bei 6,4 cc war eben noch Blaufärbung, bei 6,5 cc nicht mehr.

Es enthielten also 6,45 cc Zuckerlösung 0,050 gr Zucker, da 1 cc Fehling'scher Lösung 5 mg anzeigt, also war die Lösung

$$\frac{0{,}05 \,.\, 100}{6{,}45} = 5 : 6{,}45 = 0{,}775\,\%$$

Dann wurde auf folgende Weise der Versuch angestellt:

10 cc Fehling'sche Lösung wurden mit 5 cc Zuckerlösung (derselben wie oben), 5 cc 10 % Saccharinlösung (in Natronlauge das Säureanhydrid gelöst) und mit Wasser bis zum Gesamtvolumen von 50 cc versetzt und zum Sieden erhitzt. Der Niederschlag zeigte wie bei den Untersuchungen nach Allihn eine lehmgelbe Farbe und eine sehr feine Suspension; er senkte sich auch nach Anwendung der Chlorcalciumlösung nur langsam zu Boden. Jedoch war die Flüssigkeit noch deutlich blau. Dann wurden 6 cc Zuckerlösung verwendet, und es war noch eine ganz leichte Blaufärbung zu erkennen. Bei 7 cc zeigte sich merkwürdigerweise, dass der Niederschlag eine leichte moosgrüne Färbung annahm, welche bei Verwendung von 8, 9 etc. cc noch stärker hervortrat. Wurde dieser grüne Niederschlag abfiltriert, so zeigte auch das vollkommen klare Filtrat dieselbe moosgrüne Farbe; es wäre also unmöglich gewesen, eine eventuell noch vorhandene Blaufärbung zu erkennen.

Es wurde darauf in das klare Filtrat Schwefelwasserstoff geleitet; und es bildete sich ein sehr fein verteilter schwarzer Niederschlag. Wurde jetzt wieder filtriert, so zeigte das Filtrat die moosgrüne Farbe nicht mehr. Hieraus ist ersichtlich, dass es sich um das Auftreten einer teilweise mit grüner Farbe löslichen Kupferverbindung bei Zuckerüberschuss handelte. Es folgt daraus, dass bei einem Saccharingehalt von 5 cc 10 % Lösung in den jedesmal verwendeten 50 cc Gesamtflüssigkeit oder bei einem Saccharingehalt von 5—10 % in einer Zuckerlösung die Titrirbestimmung mit Fehling'scher Flüssigkeit zu quantitativen Zwecken nicht anwendbar ist. Da 6 cc der mit Saccharin versetzten Zucker-

lösung jedoch nur noch schwach blaue Färbung zeigte, so scheint eine wesentliche Verminderung der reduzierenden Eigenschaft der Glucose nicht vorzuliegen.

Infolge des Auftretens der grüngefärbten Kupferverbindung lag der Gedanke nahe, ob denn Saccharin mit Fehling'scher Lösung allein beim Kochen eine Umsetzung eingeht. Löst man Saccharin in unverdünnter Fehling'scher Lösung und kocht, so konnte keine Veränderung erhalten werden. Nimmt man aber ein Volumen Fehling'scher Lösung und 5 Volumina 15% Saccharinlösung und verdünnt mit 20 Volumina Wasser, so tritt beim Kochen eine Zersetzung ein: es bildet sich ein graubrauner Niederschlag, der zum Teil in metallisch glänzenden Plättchen den Boden des Kölbchens überzieht. Beim Versetzen mit Natronlauge und Kochen verschwindet der Niederschlag wieder. Bei geringerem Saccharingehalt, z. B. Verwendung von 0,5% Saccharinlösung trat keine Reaktion ein.

Die Ausführung der Titrirbestimmung im Harn.

Es wurde zunächst mit einem Harn, dem Traubenzucker bis 0,75 Prozentgehalt zugesetzt war, und der kein Saccharin enthielt, die Untersuchung in gleicher Weise wie mit der einfachen Zuckerlösung angestellt. Und zwar wurde erhalten: 6,3 cc Harn reduzieren nicht völlig die 10 cc Fehling'scher Lösung, während bei 6,4 cc völlige Entfärbung eintrat. Nehmen wir das Mittel 6,35 cc, so haben wir, da 10 cc 0,05 gr Zucker entsprechen:

$$\frac{0{,}05 \cdot 100}{6{,}35} = 0{,}788 \text{ Prozent Zuckergehalt des Harns.}$$

Jetzt wurde zu einer Menge desselben Harns Saccharin (und zwar das leicht lösliche Natronsalz, um freies Alkali zu vermeiden) zugesetzt bis 0,1%, da mehr als 0,1% der Harn nach Gebrauch dieses Surrogats wohl nie enthalten wird. Wie zu erwarten stand, trat bei 7, 8 etc. cc des untersuchten Harns auf 10 cc

Fehling'sche Lösung, also bei Uebersättigung mit Zucker die bei 5—10 % Saccharingehalt erhaltene Grünfärbung der Flüssigkeit und des Niederschlages nicht ein. Die Reaktion verlief wie ohne Anwesenheit von Saccharin. Eine Erhöhung oder Erniedrigung der Grenze der völligen Entfärbung der Fehling'schen Lösung liess sich nicht beobachten; und der Zuckergehalt des Harns wurde wieder auf 0,778 % bestimmt.

Ich ziehe daraus den Schluss, dass man für praktische Zwecke, z. B. um den Harn eines Saccharin gebrauchenden Diabetikers zu untersuchen, mit voller Zuverlässigkeit die Titrirbestimmung anwenden kann.

Qualitative Versuche.

1. Versuche mit Fehling'scher Lösung.

Ist es möglich, dass Saccharin den qualitativen Zuckernachweis verhindert? Um diese Frage zu beantworten, wurde zunächst festgestellt, bei welchem Zuckergehalt noch die Reaktion eintritt. Zu diesem Zwecke wurden immer 5 cc Zuckerlösung mit 2 cc frisch bereiteter Fehling'scher Lösung (nach derselben Vorschrift bereitet wie bei der Titrirbestimmung) versetzt und eben bis zum Sieden der obersten Schicht erhitzt. Diese im Reagenzglase ausgeführten Versuche zeigten, dass noch 0,03 % Zuckergehalt eine Reduktion anzeigt. Ein deutliches, sofortiges Ausfallen des Kupferoxyduls war jedoch erst etwas unter 0,05 % zu konstatieren (bei 0,045 %). Dann liess sich, um die Einwirkung des Saccharins erkennen zu lassen, folgendes Verfahren einschlagen: Es wurden 9 cc

0,05 % Zuckerlösung zunächst mit 4 cc Fehling'scher Lösung versetzt; und dann die 13 cc Mischung in 2 gleiche Portionen geteilt.

Zu der einen Hälfte wurde $^1/_2$ cc destilliertes Wasser, zu der anderen $^1/_2$ cc einer 10 % wässerigen Saccharinlösung (des leicht löslichen Natronsalzes) hinzugefügt. Der Zuckergehalt war demnach beiderseits der gleiche und zwar, da aus 4,5 cc 0,05 % Lösung 5 geworden waren, $\frac{0{,}05 \,.\, 4{,}5}{5} = 0{,}045\,\%$. Nun wurden beide Proben zum Sieden erhitzt und es zeigte sich folgendes: Während auf der saccharinfreien Seite die Reaktion deutlich eintrat, war auf der anderen Seite keine Ausscheidung von Kupferoxydul. Derselbe Versuch mit einer 0,075 % Zuckerlösung und gleicher Saccharinverwendung wie oben ergab ebenfalls auf der saccharinhaltigen Seite keine deutliche Reduktion. Erst bei 0,095 % Zucker trat auch dort eine positive Probe ein.

Das Resultat ist also, dass bei 1 % Saccharingehalt der positive Ausfall von 0,045 bis 0,095 % Glucose verschoben wird.

Wie verhält es sich nun, wenn der Saccharingehalt nur 0,1 % beträgt? Es wurde wieder mit 0,5 % und 0,75 % Zuckerlösung in der eben beschriebenen Weise untersucht, und diesesmal war das Resultat ein anderes. Trotz mehrmahliger Wiederholung konnte, wie im übrigen nach den quantitativen Versuchen zu erwarten war, ein hemmender Einfluss des 0,1 Prozentgehalt Saccharin auf die Ausscheidung des Kupferoxyduls nicht mit Sicherheit konstatiert werden. Die Proben nahmen denselben Verlauf wie ohne Saccharinanwesenheit.

Die gleichen Untersuchungen mit Harn.

Beim Harn ist die Unterscheidung, ob die Probe positiv oder negativ zu nennen ist, wegen der Anwesenheit anderer reduzierender Substanzen sowie des Ammoniakgehaltes schwieriger als bei einfacher Zuckerlösung. Bei dem untersuchten Harn konnte ich erst bei 0,35 % Glucosegehalt deutliche Kupferoxydulausscheidung erhalten. Auch hier zeigten die Parallelversuche, die in analoger Weise wie oben ausgeführt wurden, bei 1 % Saccharingehalt eine Erhöhung der Grenze des positiven Ausfalls und zwar von 0,35 % auf 0,45 % Zuckergehalt. Bei 0,1 % Saccharin fiel auch bei 0,35 % die Probe in gleicher Weise positiv aus wie mit der entsprechenden saccherinfreien Portion.

2. Die Trommer'sche Probe.

Führt man die Trommer'sche Probe in einfacher Zuckerlösung so aus, dass man 1/4 Volumen Natronlauge (von 1,137 Dichte) und so viel Tropfen Kupfersulfatlösung hinzufügt, als eben noch löslich ist, so erkennt man schon bei 0,02 % Zuckergehalt, dass eine Reduktion stattfindet, aber von 0,07 % an tritt eine deutliche Ausscheidung ein. Da bei dieser Probe der chemische Vorgang der gleiche ist, wie bei der Anwendung der Fehling'schen Lösung, so war in Bezug auf die Wirkung des Saccharins das gleiche Resultat zu erwarten.

Wieder wurden Parallelversuche in der Weise angestellt, dass auf beiden Seiten gleicher Zuckergehalt und gleiche Menge des Reagenz war. Dieselben ergaben bei der Trommer'schen Probe, dass 1 % Saccharingehalt im stande ist, den Grenzwert des positiven Ausfalls der Reaktion von 0,07 auf 0,12 % zu verschieben, während wiederum 0,1 % Saccharin nicht ausreichend war, um eine irgendwie deutliche Modifizierung der Probe zu verursachen.

Ausführung im Harn:

Im Harn zeigt bekanntlich die Trommer'sche Probe erst bei 0,3 bis 0,5 % Zuckergehalt deutlichen Ausfall. Der Niederschlag soll schon vor dem Sieden an der oberen Schicht der Flüssigkeit ausfallen, und sich langsam zu Boden senken. Bei dem untersuchten Harn, dem jedesmal in entsprechender Weise Traubenzucker zugesetzt war, zeigte es sich, dass erst 0,42 % Glucosegehalt deutlich positive Reaktion ergab. Wurde Saccharinlösung zu einer Probe dieses Harns so hinzugefügt, dass dieselbe wieder 0,42% Glucose und daneben 1 % Saccharinlösung enthielt, so trat keine positive Reaktion ein d. h. es zeigte sich eine Rotbraunfärbung und leichte Trübung, keine deutliche, starke Abscheidung von Kupferoxydul. Die Probe musste also negativ genannt werden. Bei 0,55 % Glycose konnte der Ausfall als positiv bezeichnet werden, jedoch zeigte der Niederschlag eine etwas dunklere Färbung als beim Fehlen des Saccharins. Bei 2 % Saccharingehalt konnte erst von 0,62 % Glycosegehalt an von einem positiven Nachweis die Rede sein.

Bei diesen Versuchen war bei der saccharinhaltigen Portion immer die Tropfenzahl Kupfersulfatlösung die gleiche wie bei der saccharinfreien. Wurde auf ersterer Seite mit Kupfersulfatlösung übersättigt, auf der anderen dafür entsprechend mit Wasser verdünnt, so zeigte das keinen erheblichen Einfluss auf den Ausfall der Probe.

Dieselbe Reihe der Versuche wurde dann mit 0,1 % Saccharinlösung ausgeführt, und eine deutliche Einwirkung war bei 0,42 % Glycose nicht zu konstatieren, obwohl der Versuch wiederholt wurde. Auch wenn Parallelproben mit und ohne Saccharin auf dem Wasserbad erwärmt wurden, um gleiche Erhitzung in gleicher Zeitdauer auf beiden Seiten zu erhalten, konnte ein konstanter Unterschied nach sechs in gleicher Weise angestellten Untersuchungen nicht beobachtet werden.

Reaktion nach Cappezzuoli.

Torsellini führt die Reaktion nach Cappezzuoli an, welche darin besteht, dass man ein Gemisch einer Zuckerlösung, Natronlauge und Kupfervitriollösung 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen lässt. Es tritt wie bei der Trommer'schen Probe bei hinreichendem Zuckergehalt eine Ausscheidung von Kupferoxydul ein. Eine Mischung von

8 cc Zuckerlösung 0,75 %
1 cc 10% Saccharinlösung
2 cc Natronlauge (1,137 Dichte)

und 20 Tropfen 10 % Kupfersulfatlösung zeigt nach 24 Stunden keine Reduktion von Kupferhydroxyd. Auch nach weiteren 24 Stunden, nachdem noch 5 Tropfen Kupfersulfatlösung mehr hinzugefügt worden waren, war weder ein Niederschlag von Kupferoxydul noch eine Veränderung der Farbe der Flüssigkeit zu erkennen.

Wurde anstatt 1 cc Saccharin 1 cc Wasser hinzugefügt und die anderen Substanzen der Mischung in gleicher Weise verwendet wie oben, so zeigte sich am Boden des Reagenzglases nach 24 Stunden ein rot gefärbter Niederschlag. Parallelversuche im Harn jedoch von 0,5 % Glucosegehalt, von denen eine Probe 0,1 %, die 2. 0,2 % und eine dritte 0,5 0% Saccharin enthielten, konnten bei 24stündigem Stehenlassen keine bemerkenswerten Unterschiede in der Stärke der Reduktion erkennen lassen.

---

3. Die Untersuchungen mit dem Nylanderschen Reagens.

Man nimmt bekanntlich auf 10 Vol. der zu untersuchenden Flüssigkeit 1 Vol. des Reagens, welches 2 g basisch salpetersaures Wismut und 4 g Seignettesalz in 100 cc einer Lösung von 10,33 g NaOH in 100 enthält und kocht 2—5 Minuten, bis Braun- und Schwarzfärbung eintritt. Die Nylander'sche Probe zeichnet sich durch grosse Empfindlichkeit aus. In einer Zuckerlösung von 0,037 % trat noch Braunschwarzfärbung ein; bei 0,018 % noch eine leichte Gelbbraunfärbung. Im Harn

ergab die untersuchte Probe mit 0,075 % Glucosegehalt keine Reaktion, desgleichen derselbe Harn mit 0,1 %. Wurde jedoch Zucker bis 0,15 % Gehalt hinzugesetzt, so zeigte der Harn nach 4 Minuten Kochen deutliche Braunschwarzfärbung.

Wurde eine Zuckerlösung 0,5 % Saccharin haltig gemacht, so trat die Braunfärbung bei 0,018 und 0,037 % wie ohne Anwesenheit des Saccharins ein. Ebenso wurde der 0,15 % Glucose enthaltende Harn von 0,5 % Saccharin nicht beeinflusst. Versuche mit 0,75 und 1 % Saccharin ergaben mit der Zuckerlösung wie mit dem Harn das gleiche Resultat. Auch das Säureanhydrid an Stelle des Natronsalzes angewandt, zeigte keinen Einfluss auf die Nylander'sche Probe.

Dass auch kein zeitliches Verzögern der Schwarzfärbung durch Saccharin hervorgerufen wird, zeigten Versuche mit dem siedenden Wasserbad. Reagensgläser mit und ohne Saccharin mit gleicher Menge Zuckerlösung und gleichem Quantum Reagens wurden zu gleicher Zeit in siedendes Wasser gestellt. Auch bei mehrmaliger Wiederholung dieses Versuches konnte bei den saccharinhaltigen Proben ein zeitlich verzögernder Einfluss der Reaktion nicht erwiesen werden. Diese Versuche ergaben bei einfacher Zuckerlösung wie bei zuckerhaltigem Harn die gleichen negativen Resultate.

---

4. Die Gährungsprobe.

Die Gärungsprobe kann auch zum quantitativen Zuckernachweis verwandt werden. Dieser zeigt jedoch viele Fehlerquellen, die von der wechselnden Beschaffenheit der Hefe und von Nebengärungen herrühren. Um

nun eine eventuelle Einwirkung des Saccharins prüfen zu können, wurde das in der Klinik häufig gebrauchte Saccharimeter von Einhorn (ein empirisch kalibriertes Gärungsröhrchen) benutzt. Je 10 cc Harn werden mit einem etwa bohnengrossen Stück Presshefe im Probirglas geschüttelt und dann in das Röhrchen eingefüllt. Die Flüssigkeit darf für diese Untersuchung nicht mehr als 1 % Glucose enthalten. Deshalb wurde ein 0,7 % zuckerhaltiger Harn verwendet. Es wurden 3 Proben zu 10 cc genommen. Die erste wurde mit Saccharin bis 2 %, die zweite bis 1 % versetzt, die dritte blieb ohne Saccharin. Jede Probe wurde darauf mit dem gleichen Quantum Hefe geschüttelt und in das Saccharimeter eingefüllt. Nach 24 Stunden zeigte das erste Röhrchen 0,65 %, das zweite etwas über 0,5 %, das dritte 0,6 % nach der Kalibrierung an. Eine deutliche Einwirkung des Saccharins auf die Gärthätigkeit der Hefe war nicht zu konstatieren.

Dann wurde ein Kontrollversuch in folgender Weise angestellt: Diesesmal wurden gleichzeitig 5 Röhrchen je 10 cc mit Hefe geschüttelter 0,5 % Glucose enthaltenden Harn gefüllt.

Röhrchen I und II enthielten kein Saccharin, III und IV hatten 1 %, Röhrchen V 2 % Saccharin. Nach 24 Stunden zeigte Röhrchen I 0,65 %, Röhrchen II 0,45 %, Röhrchen III 0,4 %, Röhrchen IV 0,6 %, Röhrchen V 0,65 % Zucker an. Eine Beeinträchtigung der Gärung durch Saccharin war also nach diesen Versuchen nicht zu konstatieren.

Resultat.

Nach vorstehenden Untersuchungen komme ich zu dem Ergebnis, dass bei der Prüfung des Harns auf

Zucker, sei es bei Diabetikern, sei es bei Glycosurie oder Diabetes verdächtigen Krankheitszuständen die eventuelle Anwesenheit von Saccharin im Harn vollkommen bei der Ausführung der Proben unberücksichtigt gelassen werden kann. Da infolge der grossen Süssigkeit des Surrogats nur kleine Mengen aufgenommnn werden, ist ein höherer Gehalt des Harns an demselben als 0,1% wohl kaum denkbar; und selbst diese Konzentration wird bei der Trommer'schen und Nylander'schen Probe so wenig wie bei der Untersuchung mit Hefe, (um die praktisch wichtigen Reaktionen anzuführen) jemals ein falsches Resultat verursachen.

Wir haben ferner gesehen, dass auch die quantitative Bestimmung mit der Titrirmethode mit Fehling'scher Lösung, ohne durch den möglichen Saccharingehalt Fehler zu erleiden, unbedenklich angewandt werden kann. Demnach verliert auch Torsellini's Empfehlung der Polarisationsmethode als der allein sicheren bei der Untersuchung eines Saccharin gebrauchenden Diabetikers, die Berechtigung.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Tappeiner für die Anregung zu dieser Arbeit und das ihr dargebrachte Interesse meinen herzlichsten Dank auszusprechen, desgleichen seinem Assistenten Herrn Dr. Jodlbauer für sein gütiges Entgegenkommen bei der Ausführung derselben.